

Influencia de las características clínicas y el hemograma basal del paciente en la composición final del plasma rico en plaquetas

Luciano A. Rossi,¹⁻² Maximiliano Ranalletta,¹⁻² Pablo Camino,⁵ Juan Pablo Zícara,¹⁻³ Matías Costa Paz,¹⁻³ Nicolás Piuizzi¹⁻⁴

¹Centro de Terapias Biológicas del Servicio de Ortopedia y Traumatología del Hospital Italiano de Buenos Aires

²Equipo de Hombro del Servicio de Ortopedia y Traumatología del Hospital Italiano de Buenos Aires

³Equipo de Rodilla Servicio de Ortopedia y Traumatología del Hospital Italiano de Buenos Aires

⁴Cleveland Clinic, Ohio, Estados Unidos

⁵Servicio de Hemoterapia del Hospital Italiano de Buenos Aires

RESUMEN

Introducción: el objetivo del siguiente estudio fue evaluar la influencia de la edad, el sexo, el índice de masa corporal y el hemograma previo de los pacientes en la composición final del PRP.

Materiales y métodos: Se realizó un análisis multivariado en trescientos pacientes para determinar la relación entre las mencionadas variables.

Resultados: el número de plaquetas finales mostró una relación directa con las plaquetas basales ($F(9.187) = 2.067, p = 0.034$). Cuando las plaquetas basales aumentaron en una unidad, las plaquetas finales aumentan en promedio con un intervalo de valores de 0.236 a 4.618 (IC 95%, $p = 0.00752$).

Discusión: el valor esperado medio de leucocitos para el protocolo "bajo" es de 1597 y para el nivel "rico" es de 9253, con un IC 95% se espera que el protocolo "rico" aumente en promedio la cantidad de leucocitos finales entre 280 y 785 % con respecto al protocolo "bajo" ($p < 0.001$). Ninguna de las otras variables estudiadas tuvo una influencia significativa en la composición final del PRP.

Conclusión: la cantidad de plaquetas en el hemograma basal afectó significativamente la concentración final de plaquetas en el PRP. Además, el protocolo de preparación afectó la concentración final de leucocitos, la que fue significativamente mayor en el protocolo de PRP rico en leucocitos que en el protocolo pobre en leucocitos. El sexo, el IMC y el HTO previo no influyeron significativamente en las concentraciones finales de plaquetas ni de leucocitos del PRP final.

Nivel de evidencia: IV

Palabras Claves: Plasma Rico en Plaquetas; Composición Final; IMC; Sexo; Edad

ABSTRACT

Introduction: the purpose of this study was to evaluate the influence of age, sex, body mass index and previous blood count of patients on the final composition of the PRP.

Material and methods: a multivariate analysis was performed in three hundred patients to determine the relationship between sex, age, body mass index (BMI) and the characteristics of the baseline blood count with the final composition of the PRP.

Results: the number of final platelets showed a direct relationship with the basal platelets ($F(9.187) = 2.067, p = 0.034$). When the basal platelets increased by one unit, the final platelets increased on average with a range of values from 0.236 to 4.618 (95% CI, $p = 0.00752$).

Discussion: the mean expected value of leukocytes for the "low" protocol is 1597 and for the "rich" level it was 9253, with a 95% CI the "rich" protocol is expected to increase on average the amount of final leukocytes between 280 and 785 % with respect to the "low" protocol ($p < 0.001$). None of the other variables studied had a significant influence on the final composition of the PRP.

Conclusion: the amount of platelets in the basal blood count significantly affected the final concentration of platelets in the PRP. Likewise, the preparation protocol affected the final leukocyte concentration, being the same significantly higher in the leukocyte-rich PRP protocol than in the leukocyte-poor protocol. Sex, BMI and previous HTO did not significantly influence the final platelet or leukocyte concentrations of the final PRP.

Level of evidence: Controlled laboratory study. Evidence IV

Key words: Platelet Rich Plasma; Final Composition; Gender; BMI; Age

INTRODUCCIÓN

El plasma rico en plaquetas (PRP) ha generado enorme expectativa entre los cirujanos ortopedistas debido a las múltiples ventajas que ha demostrado en los estudios de

ciencias básicas in vitro y en animales.¹⁻³ Entre las funciones específicas que generan interés desde el punto de vista del tratamiento de las afecciones musculoesqueléticas se encuentra la capacidad del PRP de favorecer la cicatrización de los tejidos, estimular la angiogénesis y regular los procesos inflamatorios.^{4,5} Sin embargo, los resultados clínicos no han acompañado en forma consistente los hallazgos de los estudios de ciencias básicas. La lite-

Luciano A. Rossi

luciano.rossi@hospitalitaliano.org.ar

Recibido: Julio de 2020. Aceptado: Julio de 2020.

ratura, evaluando la utilización de PRP en las diferentes afecciones traumatológicas, muestra resultados contradictorios incluso en metanálisis que analizan trabajos de alta calidad metodológica.^{5,6} Existen diversas razones para explicar este fenómeno. Por un lado, existe una amplia variabilidad en los métodos de preparación PRP en los diferentes estudios y en la mayoría de estos no se informa en forma precisa la metodología de preparación del PRP, las dosis utilizadas, ni su composición final,⁷ de esta manera resulta imposible reproducir los resultados de los diferentes ensayos clínicos en la práctica clínica diaria. Por otro lado, se agrega la dificultad impuesta por la variabilidad interindividual que existe en la composición final del PRP.

Algunos trabajos muestran que la composición final del PRP podría variar significativamente en relación con algunas variables clínicas como el sexo y la edad y algunas características el hemograma basal.⁸⁻¹² De esta manera, con el objetivo de evaluar en forma precisa la influencia de algunas variables clínicas en la composición final del PRP, elaboramos en nuestra institución en forma conjunta entre el servicio de ortopedia y traumatología y el servicio de hemoterapia un registro institucional prospectivo de utilización de PRP.

El objetivo del siguiente estudio fue evaluar la influencia de la edad, el sexo, el índice de masa corporal y el hemograma previo de los pacientes en la composición final del PRP obtenida en los primeros trescientos pacientes del registro.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para la realización del siguiente estudio prospectivo se desarrolló un Registro Institucional en conjunto con el servicio de hemoterapia. Este consistió en una base de datos donde se documentó para cada paciente que recibió un tratamiento específico con PRP información completa sobre las siguientes características:

Datos clínicos del paciente

Se recolectaron los datos clínicos principales del paciente (edad, altura, peso, antecedentes, medicación previa) y de su patología ortopédica (diagnóstico, localización, tiempo de evolución, etcétera).

Mediciones específicas del hemograma basal

Un flebotomista clínico con licencia obtuvo una muestra de 25 ml de sangre completa utilizando una técnica estándar de venipuntura entre las 7 AM y las 9 AM previo a la extracción del resto de la sangre para la preparación del PRP. Se realizó un hemograma basal en todos los pacientes luego de la extracción sanguínea, este inclu-

yó la medición de eritrocitos, leucocitos y plaquetas. Además, se midió la fórmula leucocitaria específica en todos los pacientes.

Protocolo de preparación del PRP

Se realizó una entrevista con el paciente para evaluar sus condiciones para el procedimiento y la elaboración del producto. Se descartó la presencia de infecciones, que sería una contraindicación mayor, y se recabaron datos clínicos, calidad de accesos venosos y un hemograma completo con recuento de plaquetas. Superada esta instancia, y previa firma de consentimiento informado, se efectuó la extracción de 150 ml de sangre en bolsa de extracción especialmente diseñada para tal fin con el descarte de los primeros 15 ml para disminuir el riesgo de contaminación bacteriana cumpliendo con las normas de buenas prácticas de manufactura. Todo esto se realizó de forma aséptica, con doble limpieza con alcohol y povidona yodada. De la bolsa de descarte se tomaron las muestras para efectuar la serología de las infecciones transmitidas por transfusión (ITT) e inmunohematológico del donante/paciente. La unidad extraída se sometió a una doble centrifugación en centrífuga refrigerada para Banco de Sangre Thermo Scientific Sorvall BP-16. La primera constó de una centrifugación liviana durante 4 minutos a 1400 rpm, para separar el PRP de la masa globular. El producto obtenido fue separado en bolsas satélites sin apertura del circuito, garantizando la esterilidad del proceso. El PRP fue luego centrifugado durante 6 minutos a 3000 rpm para lograr una mayor concentración del producto.

Medición de la composición final del PRP

Al finalizar el proceso se realizó control de calidad al producto a través de un contador hematológico XT RO-CHE previo a la infusión del PRP al donante/paciente. Este consta de volumen, recuento de plaquetas, recuento de glóbulos blancos, cálculo de concentración del producto. Todo esto se efectuó bajo un proceso totalmente trazable y cumpliendo todas las normas vigentes para la elaboración y guardado de hemocomponentes establecido por la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT) y la Dirección de Sangre y Hemoderivados del Ministerio de Salud de la Nación (DiSaHe).

Análisis estadístico

Se estudió el número de plaquetas finales con un modelo lineal general luego de haber verificado los supuestos estadísticos de la prueba. Para este modelo las variables explicatorias fueron: tipo de protocolo (rico o pobre en plaquetas), edad (categorizada en veinte a cincuenta años, cincuenta a setenta y mayores de setenta), índice de masa

corporal, hematocritos, eritrocitos, plaquetas basales y leucocitos basales. Por otro lado se estudió el comportamiento del número de leucocitos con las mismas covariables detalladas en el párrafo anterior y mediante un modelo lineal generalizado con una distribución de errores de Poisson y una función “log” como link; sin embargo, este modelo presentó sobredispersión y se corrigió usando un modelo quasipoisson. Todo el análisis estadístico se desarrolló con el lenguaje de programación R. El nivel de significancia para todo el estudio fue 0.05.

RESULTADOS

Se puede observar en la Tabla 1 el número medio de plaquetas y leucocitos finales según las covariables categóricas.

El número de plaquetas finales mostró una relación directa con las plaquetas basales ($F(9.187) = 2.067$, p valor = 0.034). Cuando las plaquetas basales aumentan en una unidad, las plaquetas finales aumentan en promedio con un intervalo de valores de 0.236 a 4.618 (nivel de confianza 95%, p valor = 0.00752). Ni los intervalos de edad estudiados, ni las otras variables estudiadas mostraron relación con el número de plaquetas finales (p valores >0.05) (Tabla 2).

El número de leucocitos finales solo evidencia relación con el tipo de protocolo (p valor <0.001). El valor espera-

do medio de leucocitos para el protocolo “bajo” es de 1597 y para el nivel “rico” es de 9253, con un nivel de confianza del 95% se espera que el protocolo “rico” aumente, en promedio, la cantidad de leucocitos finales entre 280 y 785% con respecto al protocolo “bajo” (Tabla 3).

DISCUSIÓN

La efectividad clínica del PRP ha producido resultados muy variables en los diferentes estudios, incluso para la misma patología.^{13,14} La evaluación crítica de la literatura pone de manifiesto tres razones principales para explicar esta variabilidad: en primer lugar, la caracterización y la presentación de informes de los protocolos de preparación de PRP utilizados en ensayos clínicos para el tratamiento de la enfermedad musculoesquelética es muy inconsistente, y la mayoría de los estudios no proporcionan información suficiente para permitir la reproducción de los protocolos.^{2,3,7}

Recientemente, en una revisión sistemática de la literatura, los autores evaluaron la descripción de los protocolos de elaboración del PRP en ciento seis estudios publicados entre el 2006 y el 2016 sobre la utilización del PRP en ortopedia,⁷ solo el 10% (once estudios) proveían la información detallada sobre la metodología de preparación del PRP necesaria como para ser reproducible por otros

TABLA 1. NÚMERO MEDIO DE PLAQUETAS Y LEUCOCITOS FINALES SEGÚN LAS COVARIABLES CATEGÓRICAS

Covariables categóricas (n)	Número final de plaquetas (media +/- desvío, (n))	Número final de leucocitos (media +/- desvío, (n))
Protocolo bajo (n = 216)	1081365 +/- 706694.9	1644.52 +/- 3356.63
Protocolo rico (n = 84)	1009258 +/- 284727.5	9418.39 +/- 4551.41
Edad 20 a 50 (n = 144)	1088831 +/- 691531.1	3301.39 +/- 5269.07
Edad 50 a 70 (n = 100)	1036825 +/- 324259.6	2242.25 +/- 3753.05
Edad >70 (n = 56)	1100790 +/- 1029465	3283.42 +/- 4436.15
Sexo femenino (177)	1160883 +/- 782631.3	2213.94 +/- 4086.75
Sexo masculino (133)	905164.4 +/- 264969.6	4054.14 +/- 5110.26

TABLA 2. ANÁLISIS MULTIVARIABLE DEL RECUENTO DE PLAQUETAS EN EL PRP FINAL

Variable explicatoria de modelo	Coefficiente estimado	Error Estándar	Pvalor
Intercepto	7.76E+08	7.43E+08	7.43E+08
Protocolo “rico”	2.37E+07	1.34E+08	86.004
Edad categoría 2	-1.41E+08	1.10E+08	20.072
Edad categoría 3	5.77E+07	1.39E+08	67.753
Sexo M	1.76E+08	1.25E+08	16.101
IMC	-9.46E+06	1.09E+07	38.701
HTO	-1.04E+06	1.78E+07	95.357
Eritrocitos	3.58E+01	4.67E+01	44.445
Plaquetas basales	2.67E+03	9.88E+02	0.00752 **
Leucocitos basales	-1.79E+04	2.67E+04	50.454

TABLA 3. ANÁLISIS MULTIVARIABLE DEL RECUENTO DE LEUCOCITOS EN EL PRP FINAL

Variable explicatoria de modelo	Coefficiente estimado	Error estándar	Pvalor
Intercepto	7.42E+03	1.73E+03	2.86e-05
Protocolo "rico"	1.76E+03	2.15E+02	0.0001***
Edad categoría 2	-3.70E+02	2.47E+02	136
Edad categoría 3	-3.43E+02	2.98E+02	251
Sexo M	3.99E+02	2.64E+02	133
IMC	-2.34E+01	2.31E+01	312
HTO	3.69E-02	4.25E+01	999
Eritrocitos	-5.07E-05	7.77E-05	515
Plaquetas basales	1.35E-03	2.31E-03	561
Leucocitos basales	7.57E-02	5.39E-02	162

investigadores. Además, solo diecisiete estudios (16%) informaban sobre la composición final del PRP utilizado en los pacientes.⁷

En segundo lugar, otro punto de desacuerdo entre los diferentes expertos es cómo debería clasificarse el producto final utilizado. Entre las variables que se han propuesto para describir el PRP final se encuentra la concentración final de plaquetas y leucocitos, el tipo específico de leucocitos, el método de activación y la utilización de control por imágenes. Sin embargo, se han descrito más de seis clasificaciones distintas solo en la última década, lo que pone de manifiesto la falta de consenso en este tema.¹⁶

En tercer lugar, algunos estudios han demostrado que algunas características clínicas del paciente podrían influenciar significativamente en la composición final del PRP.^{8, 12, 17-19} Esto tiene una implicancia clínica muy relevante debido a que tanto la concentración final de plaquetas como de leucocitos han demostrado tener implicancia en los resultados clínicos. Respecto a los leucocitos, estos han evidenciado tener una fuerte influencia en los factores de crecimiento y las citocinas administradas en el tejido objetivo.²⁰ Dadas las múltiples funciones de los glóbulos blancos, es posible que los leucocitos o subtipos específicos de leucocitos puedan ser beneficiosos en afecciones musculoesqueléticas específicas (por ej., tendinopatía crónica),¹³ mientras es más perjudicial en otros (por ej., osteoartritis o distensión muscular aguda).^{14, 15}

Respecto a las plaquetas, aún no se ha identificado una concentración óptima de estas. Más no es necesariamente mejor, ya que una concentración plaquetaria demasiado alta podría ser perjudicial para el proceso de curación.¹⁷ Por ejemplo, Giusti et al.¹⁸ demostraron efectos positivos sobre la proliferación de tenocitos humanos usando una concentración de 500 000 y 1 000 000 / μL mientras que por encima de 5 000 000 / μL indujo la muerte celular. Actualmente no existe un consenso para una dosis óptima de PRP, pero es de esperar que estudios clínicos adi-

cionales identifiquen rangos de dosis terapéuticas para indicaciones particulares. Por ejemplo, para la osteoartritis de rodilla²¹ y las tendinopatías se recomiendan concentraciones de plaquetas entre tres y cuatro veces más altas que las basales.²²

Sundman y cols.¹² evaluaron la relación entre la concentración de factores de crecimiento y citoquinas catabólicas con la composición celular final del PRP. Para esto examinaron a once voluntarios sanos y compararon dos sistemas de elaboración de PRP. El sistema PRP-1 consistió en plaquetas concentradas (1.99X) y leucocitos disminuidos (0.13X) en comparación con la sangre, mientras que PRP-2 contenía plaquetas concentradas (4.69X) y leucocitos (4.2X) en comparación con la sangre. Las plaquetas aumentaron la señalización anabólica y, en contraste, los leucocitos aumentaron las moléculas de señalización catabólica. Los autores concluyeron que los productos de PRP deben analizarse para determinar el contenido de plaquetas y leucocitos, ya que ambos pueden influir en los efectos biológicos del PRP.

En nuestro estudio encontramos que la concentración de plaquetas finales varió significativamente según la concentración de plaquetas del hemograma basal. Por otro lado, respecto a los leucocitos encontramos que su concentración final cambió significativamente según el protocolo de preparación del PRP. Según nuestros resultados, se espera que el protocolo "rico" aumente en promedio la cantidad de leucocitos finales entre 280 y 785% con respecto al protocolo "bajo".

Existe controversia en la literatura respecto de la influencia del sexo y la edad en la composición final del PRP.⁸⁻¹¹ Algunos autores encontraron una correlación significativa entre la concentración final de FsC y citoquinas y el sexo y la edad. Xiong y cols.¹⁰ estudiaron la influencia del sexo y la edad en la composición final del PRP en treinta y nueve pacientes sanos. Once pacientes femeninos y diez masculinos eran "jóvenes" (de diecio-

cho a treinta años), mientras que ocho pacientes masculinos y diez femeninos eran “mayores” (de cuarenta y cinco a sesenta años). Los autores reportaron que los pacientes masculinos tenían niveles significativamente más altos de citocinas y factores de crecimiento en el PRP en comparación con pacientes femeninos para citocinas inflamatorias como la IL-1b ($p = 0.008$) y TNF- α ($p = 0.048$); y factores de crecimiento como el FGF-básico ($p = 0.01$) y TGF- β 1 ($p = 0.002$). En un estudio similar, Evanson y cols.¹¹ analizaron la variabilidad de diferentes factores de crecimiento (FsC) en la composición final del PRP en relación con el sexo y la edad en ciento dos pacientes sanos. De los FsC probados, cuatro de siete fueron significativamente más altos ($p < 0.05$) para las mujeres (EGF, HGF, IGF-1, PDGF-BB), y cinco de siete GF fueron significativamente más altos ($p < 0.05$) para personas menores de veinticinco años (EGF, IGF-1, PDGF-AB, PDGF-BB y TGFP-1) que en los mayores de veinticinco años. Taniguchi y cols.⁸ analizaron treinta y nueve sujetos sanos japoneses y hallaron que la edad se correlacionó negativamente con el PDGF-BB y el IL1DGF-1 ($r = -0.32$ -0.39) y el género no tuvo influencia en los factores de crecimiento. En cambio, otros autores no encontraron una correlación significativa entre el sexo y la edad con las concentraciones de factor de crecimiento del PRP final.

Weibrich y cols.⁹ analizaron ciento quince muestras (estratificadas por edad y género del donante) para deter-

minar las concentraciones de factor de crecimiento y el recuento de plaquetas; los autores no observaron una correlación significativa entre el sexo, la edad o el recuento de plaquetas previo con las concentraciones de factor de crecimiento del PRP final. En nuestro estudio, al igual que Weibrich y cols., no encontramos una correlación entre la edad y el sexo, y la composición final del PRP.

Finalmente, a diferencia de otros estudios previos que evaluaron la variabilidad de la composición final del PRP, nosotros también estudiamos la influencia del IMC, el hematocrito previo y los subtipos celulares específicos del hemograma basal en la composición final del PRP. En nuestro estudio, ninguna de estas variables influyó significativamente en la concentración final de plaquetas ni de leucocitos.

CONCLUSIÓN

La cantidad de plaquetas en el hemograma basal afectó de manera significativa la concentración final de plaquetas en el PRP. De igual manera, el protocolo de preparación afectó la concentración final de leucocitos, la que fue significativamente mayor en el protocolo de PRP rico en leucocitos que en el protocolo pobre en leucocitos. El sexo, el IMC y el HTO previo no influyeron en forma considerable en las concentraciones finales de plaquetas ni de leucocitos del PRP final.

BIBLIOGRAFÍA

- Zhang JY; Fabricant PD; Ishmael CR; Wang JC; Petrigliano FA; Jones KJ. Utilization of platelet-rich plasma for musculoskeletal injuries. *Orthopaedic Journal of Sports Medicine*, 2016; 4(12): 232596711667624. DOI: 10.1177/2325967116676241
- Chu CR; Rodeo S; Bhutani N; et al. Optimizing clinical use of biologics in orthopaedic surgery: Consensus recommendations from the 2018 AAOS/NIH U-13 Conference. *J Am Acad Orthop Surg*, 2018; Oct. DOI: 10.5435/JAAOS-D-18-00305
- Piuzzi NS; Dominici M; Long M; et al. Proceedings of the signature series symposium “cellular therapies for orthopaedics and musculoskeletal disease proven and unproven therapies—promise, facts and fantasy,” International Society for Cellular Therapies, Montreal, Canadá, may 2, 2018. *Cytotherapy*, 2018; 20(11): 1381-400. DOI: 10.1016/j.jcyt.2018.09.001
- Wang D; Rodeo SA. Platelet-rich plasma in orthopaedic surgery. *JBJS Reviews*, 2017; 5(9): e7. DOI: 10.2106/JBJS.RVW.17.00024
- Le ADK; Enweze L; DeBaun MR; Dragoo JL. Current clinical recommendations for use of platelet-rich plasma. *Curr Rev Musculoskelet Med*, 2018; 11(4): 624-34. DOI: 10.1007/s12178-018-9527-7
- LaPrade RF; Dragoo JL; Koh JL; Murray IR; Geeslin AG; Chu CR. AAOS Research Symposium updates and consensus: biologic treatment of orthopaedic injuries. *J Am Acad Orthop Surg*, 2016; 24(7): e62-78. DOI: 10.5435/JAAOS-D-16-00086
- Chahla J; Cinque ME; Piuzzi NS; et al. A call for standardization in platelet-rich plasma preparation protocols and composition reporting: a systematic review of the clinical orthopaedic literature. *J Bone Joint Surg Am*, 2017; 99(20): 1769-79. DOI: 10.2106/JBJS.16.01374
- Taniguchi Y; Yoshioka T; Sugaya H; Gosho M; Aoto K; Kanamori A; Yamazaki M. Growth factor levels in leukocyte-poor platelet-rich plasma and correlations with donor age, gender, and platelets in the Japanese population. *J Exp Orthop*, 2019; Feb 2; 6(1): 4. DOI: 10.1186/s40634-019-0175-7
- Weibrich G; Kleis WKG; Hafner G; Hitzler WE. Growth factor levels in platelet-rich plasma and correlations with donor age, sex, and platelet count. *J Craniomaxillofac Surg*, 2002; Apr; 30(2): 97-102. DOI: 10.1054/jcms.2002.0285
- Xiong G; Lingampalli N; Koltsov JCB; et al. Men and women differ in the biochemical composition of platelet-rich plasma. *Am J Sports Med*, 2018; 46(2): 409-19. DOI: 10.1177/0363546517740845
- Evanson JR; Guyton MK; Oliver DL; Hire JM; Topolski RL; Zumbun SD; McPherson JC; Bojeskul JA. Gender and age differences in growth factor concentrations from platelet-rich plasma in adults. *Mil Med*, 2014; Jul; 179(7): 799-805. DOI: 10.7205/MILMED-D-13-00336
- Sundman EA; Cole BJ; Fortier LA. Growth factor and catabolic cytokine concentrations are influenced by the cellular composition of platelet-rich plasma. *Am J Sports Med*, 2011; 39(10): 2135-40. DOI: 10.1177/0363546511417792
- Kia C; Baldino J; Bell R; Ramji A; Uyeki C; Mazzocca A. Platelet-rich plasma: review of current literature on its use for tendon and ligament pathology. *Curr Rev Musculoskelet Med*, 2018; 11(4): 566-72. DOI: 10.1007/s12178-018-9515-y
- Dai W-L; Zhou A-G; Zhang H; Zhang J. Efficacy of platelet-rich plasma in the treatment of knee osteoarthritis: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Arthroscopy*, 2017; 33(3): 659-70.e1. DOI: 10.1016/j.arthro.2016.09.024
- Sheth U; Dwyer T; Smith I; et al. Does platelet-rich plasma lead to earlier return to sport when compared with conservative treatment in acute muscle injuries? A systematic review and meta-analysis. *Arthroscopy*, 2018; 34(1): 281-8.e1. DOI: 10.1016/j.arthro.2017.06.039

16. Rossi LA; Murray IR; Chu CR; Muschler GF; Rodeo SA; Piuze NS. Classification systems for platelet-rich plasma. *Bone Joint J*, 2019; 101-B(8): 891-6. DOI: 10.1302/0301-620X.101B8.BJJ-2019-0037.R1
17. Laver L; Marom N; Dnyanesh L; et al. PRP for degenerative cartilage disease: a systematic review of clinical studies. *Cartilage*, 2017; 8: 341-64.
18. Giusti I; D'Ascenzo S; Mancò A; et al. Platelet concentration in platelet-rich plasma affects tenocyte behavior in vitro. *Biomed Res Int*, 2014; 2014: 1-12.
19. Fadadu PP; Mazzola AJ; Hunter CW; Davis TT. Review of concentration yields in commercially available platelet-rich plasma (PRP) systems: a call for PRP standardization. *Reg Anesth Pain Med*, 2019; (published online ahead of print) rapm-2018-100356. DOI:10.1136/rapm-2018-100356
20. Kobayashi Y; Saita Y; Nishio H; et al. Leukocyte concentration and composition in platelet-rich plasma (PRP) influences the growth factor and protease concentrations. *J Orthop Sci*, 2016; 21(5): 683-9. DOI: 10.1016/j.jos.2016.07.009
21. Milants C; Bruyère O; Kaux J-F. Responders to platelet-rich plasma in osteoarthritis: a technical analysis. *BioMed Res Int*, 2017; 2017: 1-11
22. Kaux J-F; Bouvard M; Lecut C; et al. Reflections about the optimisation of the treatment of tendinopathies with PRP. *Muscles Ligaments Tendons J*, 2015; 5(1): 1-4.